

Зиядуллаев Ш.Х.

РОЛЬ ГЕНА ВЫСОКОАФФИННОГО РЕЦЕПТОРА IgE В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Самаркандский государственный медицинский институт

В настоящее время активно разрабатываются молекулярные основы предиктивной медицины. Концептуальную основу предиктивной медицины составляют представления о генетическом полиморфизме [1,2,6]. Генетическим исследованиям мультифакториальных заболеваний во многом способствует детальное описание патогенеза изучаемых болезней. Зная молекулярные механизмы формирования заболеваний, можно наметить гены, белковые продукты которых имеют в этом наибольшее значение. Такие гены будут являться «кандидатами» на роль генов подверженности к заболеванию. Изучение их изменчивости в связи с патологическими состояниями позволит выявить наследственные молекулярные особенности, предрасполагающие к развитию болезни. Молекулярные и клеточные механизмы реализации атопических состояний сегодня достаточно хорошо изучены. Важная роль здесь принадлежит цитокинам [7,9,10,11,12], ответственным за гуморальный иммунитет, факторам антигенного распознавания [5], рецепторам лимфоцитов, ферментам метаболизма [3,4,8] воспалительных медиаторов и т. д. Среди множества генов-кандидатов, представляют интерес ген FcεRIβ являющийся важным компонентом наследственной составляющей подверженности к бронхиальной астме и атопии [13,14].

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучить ассоциацию бронхиальной астмы, обусловленную влиянием полиморфизма гена FcεRIβ в узбекской популяции для совершенствования диагностики и оптимизации терапии.

Материалы и методы.

Соответственно поставленной цели нами изучены распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена β-цепи высокоаффинного рецептора IgE (FcεRIβ) у больных в общей группе и с различными фенотипическими вариантами бронхиальной астмой и здоровых индивидов узбекской национальности. Обследовано более 150 подростков и юношей, страдающих бронхиальной астмой в возрасте от 12 до 19 лет. Контрольную группу составили 48 практически здоровых лиц узбекской национальности. Больные бронхиальной астмой распределялись по группам согласно международной классификации ВОЗ (Х-пересмотр, МКБ-10) и в соответствии с диагностическими критериями Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA, 2006) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА. Анализ полиморфного варианта гена FcεRIβ осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР) на амплификаторе и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в полиакриламидном геле.

Выделение ДНК проводилось по стандартному протоколу выделения ДНК с использованием набора реагентов Diatom™ DNA Prep 200. Геномная ДНК визуализировалась в 0,9% агарозном геле и ее концентрация оценивалась визуально путем сравнения со стандартной концентрацией маркера - ДНК фага лямбда и разводилась до рабочей концентрации 10 нг/мкл.

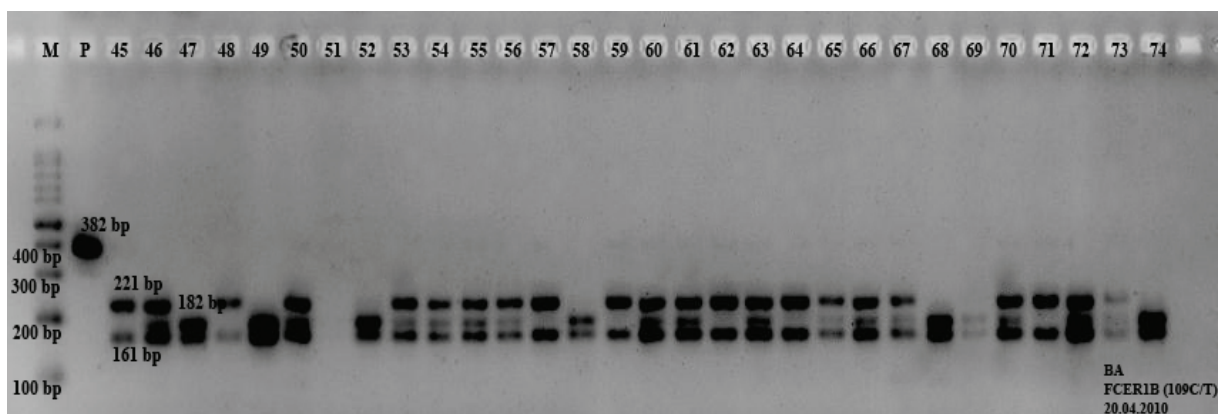


Рисунок. Пример электрофореграммы результатов ПДРФ анализа гена FcεRIβ (109C/T полиморфизм) с 45-го по 74-ой исследуемые образцы.

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов 109C/T полиморфизма гена FcεRIβ при БА.

Полимор- физм	груп- пы	N	аллель		генотипы			X ²	P Val ue	OR Odds Ratio
			109C	109T	109C/ T	109C/ C	109T/T			
109C/T	Кон- троль	46	49- 106,5%	43- 93,5%	13- 28,2%	18 - 39,1%	15 – 32,6%	27.72	.00 0	3.6 1.19-4.4
	АБА	103	43- 20,8%	153- 79,1%	31- 30,1%	6- 5,8%	66- 64,1%			

Супернатант с ДНК далее подвергался непосредственно генотипированию путем ПЦР-амплификации с использованием двух пар специфических олигонуклеотидных праймеров с участками гена FcεRIβ - Forward – 5'-GTG GGG ACA ATT CCA GAA GA-3', Reverse – 5'-CCG AGC TGT CCA GGA ATA AA-3'. Олигонуклеотиды были синтезированы компанией IDT (Integrated DNA Technologies, Iowa, США). Продукты ПЦР-амплификации подвергали рестрикционному анализу с использованием специфической эндонуклеаз рестрикции Tru9I. Температура инкубации составляла 65°C. Рестриктазы производства «СибЭнзим» (Россия). Программа амплификации: 5 мин предварительной денатурации при 94 °C, 35 циклов; 94 °C - 30с, 55 °C - 45с, 72 °C - 1мин; элонгация при 72 °C в течение 7 мин.

Детекция ПДРФ - продуктов и генотипирование проводили с использованием горизонтальной или вертикальной элетрофорезной системы в 2% агарозном геле или в 6% акриламидном геле. Для фотодокументации гели окрашивались в течение короткого времени (3-5 мин.) раствором бромистого этидия с концентрацией 0,1 мкг/мл, промывали в проточной воде (15-20 мин.) и фотодокументировали при помощи Alpha Imager 3400 (Alpha Innotech, США). Для дальнейшей обработки данные электрофореза были переведены в цифровой формат и введены таблицы Microsoft Excel.

Данные исследования проводились в Центре Геномных Технологий Института Биохимии АН РУз (директор Мухамедов Р.С.).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с использованием программы BIOSTAT.EXE.

Результаты исследований.

Проведенный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта - 109C/T гена FcεRIβ выявил тенденцию к накоплению гомозиготного генотипа 109T/T и аллеля 109T при статистически недостоверном отличии между общей группой больных БА и контрольной выборкой в узбекской популяции.

Различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса - 109C/T гена FcεRIβ были достоверными и между группами больных с аллергической формой БА и здоровых индивидов узбекской этнической принадлежности. Ассоциация с аллергической формой БА была определена для генотипа FcεRIβ-109T/T и аллеля FcεRIβ-109T. Гомозиготный генотип FcεRIβ-109C/C и аллель FcεRIβ-109C являются маркерами пониженного риска развития аллергической формы БА у узбеков. Следует отметить, что высокая степень сцепления генотипа FcεRIβ-109T/T и аллеля FcεRIβ-109T отмечалась с наследственной отягощенностью заболевания. Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта - 109C/T гена FcεRIβ не выявил достоверных отличий между контрольной выборкой и группами с различной клинико-патогенетической формой заболевания.

Полученные данные свидетельствуют, что маркерами повышенного риска развития аллергической формы бронхиальной астмы у подростков узбекской этнической принадлежности являются генотип FcεRIβ-109T/T и аллель FcεRIβ-109T, маркерами пониженного риска – FcεRIβ-109C/C и аллель FcεRIβ-109C.

Таким образом, проведено молекулярно-генетическое исследование БА, в результате которого показан вклад полиморфного варианта гена FcεRIβ, в формирование генетической структуры предрасположенности к бронхиальной астме в узбекской популяции.

Использованная литература

1. Иващенко Т.Э., Сиделева О.Г., Петрова М.А. и др. Генетические факторы предрасположенности к бронхиальной астме. Генетика 2001, 37№1: 107–111.
2. Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. Генные сети. Молекулярная биология 2000, 34

- №4: 533–544.
3. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Макарова С.И. Роль ферментов биотрансформации в предрасположенности к БА и формировании особенностей ее клинического фенотипа. Вестник РАМН 2000, 12: 36–41.
4. Ляхович В.В., Гавалов С.М., Вавилин В.А. и др. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации и особенности бронхиальной астмы у детей. Пульмонология 2002, 12№2: 31–38.
5. Медуницын Н.В., Алексеев Л.П. Система Ig антигенов.- Москва, 1987: 174.
6. Пузырев В.П. Генетика мультифакториальных заболеваний: между прошлым и будущим. Мед. генетика 2003, 2№12: 498–508.
7. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Кобякова О.С. Взаимосвязь полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов с atopической бронхиальной астмой. Мед. генетика 2002, 1№ 2: 86–92.
8. Сафронова О.Г., Вавилин В.А., Ляпунова А.А. Взаимосвязь между полиморфизмом глутатионовой S-трансферазы P1 и бронхиальной астмой и atopическим дерматитом. Бюллетень эксперим. биол.и мед. 2003, 136. №.1: 73–75.
9. Фрейдин М.Б. Роль генов интерлейкинов и их рецепторов в формировании предрасположенности к atopической бронхиальной астме. Томск, 2001, 21.
10. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Петровский Ф.И. и др. Анализ связи полиморфизма генов *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2C19* и *CYP2E1* с atopией у жителей г. Томска. Мед. иммунол. 2003, 5: 107–112.
11. Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Вклад полиморфизма генов интерлейкинов в изменчивость количественных факторов риска atopической бронхиальной астмы. Мед. генетика. 2003, 3: 130–135.
12. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П., Огородова Л.М. и др. Оценка ассоциации полиморфизма T113M гена *IL9* с бронхиальной астмой. Генетика 2000, 4: 559–561.
13. Hill M.R, Cookson W.O.C.M. A new variant of the β subunit of the high-affinity receptor for immunoglobulin E (Fc ϵ RI- β E237G): associations with measures of atopity and bronchial hyperresponsiveness. Hum. Mol. Genet. 1996, 5: 959–962.
14. Hopkin J. Molecular genetics of the high affinity IgE receptor // Monogr. Allergy. 1996. V. 33. P. 97–108.